

PEMANFAATAN SUPERNATAN KULTUR *Pediococcus acidilactici* F11 PENGHASIL BAKTERIOSIN UNTUK MEMPERPANJANG MASA SIMPAN TAHU

Eni Harmayani¹, Endang S. Rahayu¹, Titiek F. Djaafar², Nuri Wahyuningsih¹ dan Tri Marwati³

¹Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Email:fateta@ugm.ac.id

²Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta
Email:bptp-diy@litbang.deptan.go.id

³Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor
Email:bb_pascapanen@litbang.deptan.go.id

Tahu merupakan makanan yang mudah rusak akibat aktivitas bakteri pembusuk. *Pediococcus acidilactici* F11 potensial digunakan sebagai pengawet karena mampu memproduksi bakteriosin yang bersifat antibakteri. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan supernatan kultur *P. acidilactici* F11 (PaF11) dalam menghambat bakteri dan *coliform* pada tahu sebagai upaya memperpanjang umur simpan. Variasi perlakuan yang dicobakan yaitu : pasteurisasi dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 95°C selama 5 menit (PDS), perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 4°C selama semalam (RSS) dan perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu kamar selama 15 menit (RSL). Sebagai kontrol dilakukan perlakuan pasteurisasi dengan air pada 95°C selama 5 menit (KON), dan perendaman dengan Nisaplin[®] (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit (RNL). Supernatan kultur PaF11 diperoleh dengan cara sentrifugasi kultur PaF11 yang ditumbuhkan dalam limbah cair tahu dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi 37°C selama 18-24 jam. Total bakteri dan *coliform* pada tahu dianalisis pada penyimpanan hari ke 0,3 dan 7 dan uji organoleptik dilakukan pada hari ke 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasteurisasi dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 95°C selama 5 menit (PDS) dapat menekan bakteri tahu sebesar 2 log cycle dan *coliform* 475 APM/g dan perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 4°C selama semalam (RSS) dapat menekan bakteri sekitar 2 log cycle dan *coliform* sebesar 550 APM/g. Pasteurisasi dengan air pada 95°C selama 5 menit (KON), total bakteri dan *coliform* dalam tahu terus mengalami peningkatan selama penyimpanan. Baik perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu kamar selama 15 menit (RSL) maupun perendaman dengan Nisaplin[®] (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit (RNL) tidak mampu menekan bakteri maupun *coliform* tahu. Penggunaan supernatan kultur PaF dengan cara pasteurisasi pada suhu 95 °C selama 5 menit (PDS) dan perendaman pada suhu 4°C selama semalam (RSS) dapat memperpanjang masa simpan tahu sampai 7 hari, dan meningkatkan tingkat penerimaan panelis.

Kata Kunci: tahu, supernatan kultur *P. acidilactici* F11, total bakteri, *coliform*, karakteristik organoleptik.

ABSTRACT. Harmayani E., E.S. Rahayu, T.F. Djaafar, N. Wahyuningsih and T. Marwati. 2009. Utilization of the culture supernatant of *P. acidilactici* F11 as a bacteriocin producer to extend shelf-life of tofu. Tofu is a nutritious food and prone to spoilage by bacterial activity. *Pediococcus acidilactici* F11 can be used as food preservatives because of their ability to produce bacteriocin as an antibacterial metabolite. The purpose of this research was to determine the ability of the culture *P. acidilactici* F11 (PaF11) supernatant to inhibit bacteria and *coliform* and to extend shelf-life of tofu. Treatments done were : pasteurization using PaF11 culture supernatant at 95°C for 5 min (PDS), soaking using PaF11 culture supernatant at room temperature for 15 min (RSL), and soaking using PaF11 culture supernatant at 4°C overnight (RSS). Pasteurization tofu in water at 95°C for 5 min (KON) and soaking tofu in Nisaplin[®] (200 mg/L) at 4°C for 15 min (RNL) were used as control. Culture supernatant of PaF11 was obtained by centrifuging the culture of PaF11 which was grown for 18-24 h at 37°C in tofu liquid waste with addition of 1% sucrose. Total bacteria and *coliform* on tofu were analyzed at 0, 3, 7 days and sensory test were conducted at 7 days of storage. Result showed that pasteurized tofu in PaF11 supernatant at 95°C for 5 min (PDS) had low bacteria and *coliform* counts (2 log cycle and 475 APM/g respectively) during storage. Tofu soaked in PaF11 supernatant at 4°C overnight (RSS) had lower both bacteria and *coliform* counts compared to control (2 log cycle and 550 APM/g, respectively) during storage. Data indicated that both bacteria and *coliform* counts of pasteurized tofu in water at 95°C for 5 min (KON) increased during storage. Addition of 200 mg/l Nisaplin[®] at 4°C for 15 min (RNL) or supernatant soaked at room temperature for 15 min (RSL) did not inhibit both bacteria and *coliform* on tofu during storage. Utilization of PaF11 supernatant for pasteurization at 95°C for 5 min (PDS) and soaking at 4°C overnight (RSS) prolonged the shelf-life of tofu up to 7 days and increased the acceptance level of panelis.

Keyword: tofu, *P. acidilactici* F11 supernatant, total of bacteria, *coliform*, sensory characteristic.

PENDAHULUAN

Tahu mengandung gizi yang tinggi yaitu protein, asam-asam amino esensial dan isoflavon¹. Selain memiliki kelebihan, tahu juga mempunyai kelemahan, yaitu kandungan airnya yang tinggi (A_w 0,98) sehingga mudah rusak karena mudah ditumbuhi mikrobia pembusuk. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 01-3142-1992, standar kualitas tahu yaitu angka lempeng total maksimal 1×10^6 CFU/g dan *Eschericia coli* kurang dari 3 APM/g².

Studi kualitas mikrobiologi tahu telah dilakukan, seperti: *Enterobacteriaceae*, bakteri asam laktat, *Escherichia coli* dan *Yersinia enterocolitica*³; *coliform* dan bakteri pembentuk spora dan yeast⁴; *Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides*⁵; *Bacillus* sp. (S08), *B. megaterium* (S10), *B. cereus* (S17, S27, S28, S32) dan *Enterobacter sakazakii* (S35) terdapat pada tahu⁶. Jumlah mikrobia pada tahu segar adalah $> 10^5$ CFU/g⁷. Umumnya produk memiliki total mikrobia $> 10^6$ CFU/g setelah penyimpanan selama 7 hari pada suhu dingin.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, menunjukkan bahwa kualitas mikrobiologis tahu yang ada di pasar kurang baik, sehingga mempunyai daya simpan yang pendek. Usaha peningkatan daya simpan banyak dilakukan oleh masyarakat dengan cara-cara yang tidak dibenarkan seperti penambahan formalin. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha untuk memperbaiki kualitas mikrobiologis tahu sehingga kerusakan tahu selama penyimpanan dapat diperlambat dan masa simpan tahu lebih panjang.

Ada beberapa cara untuk peningkatan daya simpan tahu, antara lain menggunakan bahan pengawet larutan garam dan asam⁸, kitosan⁹, bubuk kulit kerang¹⁰, ekstrak *Ocimum sanctum*¹¹ dan menggunakan teknik sterilisasi¹². Usaha untuk memperpanjang masa simpan tahu dengan cara pasteurisasi, penyimpanan dingin dan penggunaan nisin juga telah dilakukan. Dilaporkan bahwa tahu tanpa pasteurisasi yang disimpan pada suhu kamar hanya dapat bertahan selama 1 hari, tetapi dengan kombinasi perlakuan pasteurisasi dan penyimpanan suhu dingin efektif memperpanjang masa simpan tahu. Pada penyimpanan suhu dingin (5°C), tahu yang tidak dipasteurisasi masa simpannya 2 hari, tahu pasteurisasi suhu 95°C selama 5 dan 10 menit masa simpannya 4 hari, tahu pasteurisasi 15 menit masa simpannya 6 hari, dan tahu pasteurisasi 20 sampai 30 menit masa simpannya 8 hari¹³. Masa simpan tahu kemasan diberi nisin 200 IU/g dipasteurisasi pada suhu 95°C selama 5 menit dan disimpan dingin (5°C) bisa mencapai 6 hari dengan karakteristik fisik yang paling baik dibanding perlakuan lainnya¹⁴.

Bakteri asam laktat mampu memproduksi metabolit yang bersifat antibakteri antara lain: diasetil¹⁵, hidrogen peroksida¹⁶, karbon dioksida¹⁷, asam laktat dan asam asetat¹⁸ serta bakteriosin¹⁹. Bakteriosin adalah peptida yang mempunyai aktivitas antimikrobia terhadap organisme yang memiliki kekerabatan dekat, termasuk organisme pembusuk dan patogen makanan²⁰. Bakteri asam laktat (BAL) telah digunakan selama berabad-abad untuk fermentasi dan pengawetan makanan, seperti daging, sayuran dan tergolong bakteri yang aman (*Generally Recognized As Safe* – GRAS). Salah satu bakteri asam laktat yang telah diteliti yaitu *P. acidilactici* F11 atau disebut Pediosin PAF-11, mampu menghasilkan bakteriosin yang dapat memperpanjang umur simpan produk daging dan sayuran. Potensi *P. acidilactici* F-11 dan pediosin PAF-11 yang dihasilkan sebagai pengawet diketahui dari aplikasinya sebagai penghambat pertumbuhan bakteri pada beberapa produk pangan. Penambahan kultur *P. acidilactici* F-11 pada pembuatan ikan sua (ikan asin) gurame dapat menekan pertumbuhan bakteri *coliform*²¹. Pada sayuran santap segar (tauge), penambahan kultur *P. acidilactici* F-11 efektif menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Biomassa *P. acidilactici* F-11 yang disemprotkan pada sayuran segar, khususnya paprika dan wortel yang disimpan dingin dapat menekan pertumbuhan *S. aureus*²².

Selain kemampuannya dalam menghambat bakteri pembusuk dan patogen pada bahan pangan, bakteriosin memiliki beberapa kelebihan lain yang menjadikannya potensial digunakan sebagai agen biopreservatif. Pertama, bakteriosin bukan merupakan bahan yang toksik dan mudah mengalami degradasi oleh enzim proteolitik karena merupakan senyawa protein. Kedua, penggunaannya tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan. Ketiga, penggunaan bakteriosin dapat mengurangi penggunaan bahan kimia yang selama ini digunakan sebagai bahan pengawet pangan. Keempat, penggunaannya sangat fleksibel. Kelima, bakteriosin memiliki kestabilan terhadap pH dan suhu yang cukup luas. Hal ini menjadikan bakteriosin tahan terhadap proses pengolahan yang melibatkan asam dan basa, maupun kondisi panas dan dingin²³. Dengan adanya bakteriosin dalam supernatan kultur, diharapkan mampu menghambat bakteri pembusuk dan patogen sehingga tahu menjadi lebih awet dan aman. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penggunaan supernatan kultur *P. acidilactici* F11 pada proses pasteurisasi dan perendaman terhadap masa simpan tahu yang disimpan pada suhu dingin, terutama untuk mengetahui kemampuannya dalam menghambat bakteri dan *coliform*.

BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan alat

Penelitian dilakukan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada pada bulan Juli 2007 sampai Maret 2008. Bahan yang digunakan adalah tahu segar (dari CV Kitagama, Yogyakarta) sebagai sampel yang akan diberi perlakuan, isolat bakteri asam laktat yaitu *P. acidilactici* F11 (*PaF11*) dari Pusat Studi Pangan Gizi, Universitas Gadjah Mada sebagai bakteri penghasil bakteriosin, *Nisaplin*^R digunakan sebagai kontrol bakteriosin komersial. Media yang digunakan antara lain limbah cair tahu dari CV Kitagama dan 1% sukrosa yang digunakan sebagai media pertumbuhan *P. acidilactici* F11, *Tryptone Glucose Yeast Extract* (TGE) untuk peremajaan *P. acidilactici* F11, Plate Count Agar (PCA) untuk enumerasi total bakteri dalam tahu, larutan pepton 0,1 % sebagai larutan pengencer, *Lauryl Sulphate Tryptone* (LST) dan *Briliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) untuk uji *coliform*.

Alat yang digunakan untuk perendaman dan pasteurisasi tahu adalah plastik sampel (*zip lock*) dan panci. Peralatan lain meliputi : inkubator untuk inkubasi, sentrifuge 3500 rpm untuk mendapatkan supernatan *PaF11*, peralatan gelas dan alat-alat untuk uji total bakteri, uji *coliform* dan uji organoleptik.

B. Metode

1. Produksi supernatan kultur *P. acidilactici* F11.

Kultur *PaF11* sebanyak 3 ose ditumbuhkan dalam 2,5 ml TGE cair selama 18 – 24 jam pada suhu 37 °C, lalu diinokulasikan ke 22,5 ml TGE cair selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diinokulasikan ke dalam 225 ml limbah cair tahu 1 % sukrosa dan diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Supernatan kultur *PaF11* (SP) diperoleh dengan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.

2. Aplikasi supernatan kultur *P. acidilactici* F11 pada proses pasteurisasi dan perendaman tahu.

Tahu dipotong berukuran 1,5 x 1,5 x 3 cm/potong. Tahu yang dipakai untuk tiap perlakuan sebanyak 5 potong atau sekitar 125 g tahu. Variasi perlakuan dengan penggunaan supernatan *PaF11* dilakukan berdasarkan observasi menyerupai cara-cara yang dilakukan UKM tahu di masyarakat. Pada CV. Kitagama, tahu dipasteurisasi dengan air, sedangkan di UKM lain biasanya tahu direndam selama semalam sebelum dijual. Supernatan

PaF11 (SP) masing-masing sebanyak 250 ml digunakan untuk tiga perlakuan: pasteurisasi dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu 95°C selama 5 menit (PDS)¹⁴, perendaman dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu 4°C selama semalam (RSS) dan perendaman dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu kamar selama 15 menit (RSL). Kondisi perendaman pada suhu kamar dan suhu 4°C¹⁴, pasteurisasi dapat dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit. Dengan pemikiran bahwa penetrasi supernatan kultur *PaF11* ke dalam tahu pada suhu yang lebih rendah memerlukan waktu yang lebih lama dari pada suhu yang lebih tinggi, maka pada perendaman dengan suhu kamar dilakukan selama 15 menit dan pada suhu 4°C selama semalam. Sebagai kontrol, digunakan perlakuan yaitu tahu pasteurisasi dengan 250 ml air pada 95°C selama 5 menit (KON)¹⁴. Untuk sampel kontrol kedua, bakteriosin komersial yang digunakan adalah *Nisaplin*^R dengan kadar 200 mg/l (400 IU) yang diperoleh dengan cara : menimbang *Nisaplin*^R sebanyak 0,05 g dan dilarutkan dalam 250 ml aquades steril. Larutan *Nisaplin*^R ini kemudian digunakan untuk merendam tahu pada suhu kamar selama 15 menit (RNL). Kemudian masing-masing perlakuan disimpan dalam plastik *ziplock* pada suhu 4°C dan dilakukan uji total mikroba, uji *coliform*, uji pH, dan uji organoleptik selama penyimpanan. Percobaan diulang 3 kali, dengan Rancangan Block Lengkap (RBL).

Data TPC, *coliform* dan pH tahu dianalisa dengan ANAVA menggunakan Rancangan Blok Lengkap (RBL). Data dihitung sesuai dengan rancangan statistik dan dievaluasi menggunakan ANAVA dengan bantuan program SPSS. Bila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji perbandingan antara rerata perlakuan dengan metode DMRT (Duncan's Multiple Range Test).

3. Uji kualitas tahu selama penyimpanan.

Pada penyimpanan hari ke-0, 3, 7 dilakukan uji total mikrobia tahu dengan metoda *Total Plate Count*²⁴, uji *coliform* menggunakan metoda *Most Probable Number*²⁴ dan uji pH tahu. Sedangkan uji organoleptik dilakukan pada hari ke-7 dengan metoda *Scoring* menggunakan *category scale*²⁵ dengan 25 panelis untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis dan mengetahui atribut tahu (flavor, warna, tekstur dan kenampakan). Pada uji organoleptik ini digunakan nilai 1 sampai 10 dimana semakin besar nilai yang diberikan panelis menunjukkan bahwa kualitas tahu baik, sedangkan bila nilai semakin rendah menunjukkan kualitas tahu jelek. Nilai terendah yaitu 1 menunjukkan flavor asam, warna putih kekuningan, tekstur keras, dan kenampakan berlendir. Sedangkan nilai terbesar yaitu 10 menunjukkan bahwa flavor tahu normal (tidak asam), warna tahu putih, kenampakan tidak berlendir (SNI 01-3142-1992 revisi 0270-80) dan tekstur kompak²⁶.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Aktivitas Kultur *P. acidilactici* F11

Sebelum dilakukan aplikasi supernatan *Pa*F11 dalam proses pasteurisasi atau perendaman tahu, maka terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas kultur *Pa*F11 yang ditumbuhkan dalam limbah cair yang ditambah 1% sukrosa (Gambar 1). Dari Gambar 1 terlihat bahwa *Pa*F11 yang ditumbuhkan dalam limbah cair yang ditambah 1% sukrosa mampu menghasilkan bakteriosin dan mampu menghambat pertumbuhan *P. acidilactici* LB42 (indikator) dengan aktivitas sebesar 25 AU/ml.

Media fermentasi mempunyai peranan dalam hal penyediaan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikrobia yang digunakan untuk sumber energi, pembentukan biomassa, dan pembentukan metabolit. Organisme hidup membutuhkan zat-zat dasar yang harus dipenuhi antara lain sumber C, sumber N, dan faktor tumbuh esensial (vitamin dan mineral) untuk mendukung pertumbuhannya. Melihat hasil karakterisasi limbah cair tahu, komponen pertumbuhan yang sangat kurang adalah sumber C (gula reduksi limbah cair tahu adalah sebesar 0,09275 %). Hal ini jauh sekali dengan standar media untuk produksi bakteriosin dengan menggunakan TGE yang mengandung glukosa 1 %, dimana glukosa yang digunakan merupakan nutrisi yang mudah larut dan mudah digunakan bakteri untuk tumbuh. Oleh karena itu, agar *Pa*F11 dapat tumbuh baik, dalam limbah cair tahu perlu ditambahkan sumber C dari luar. Sumber C yang mudah diperoleh dan harganya

terjangkau (murah) adalah sukrosa (gula pasir). Limbah cair tahu ditambahkan sukrosa mengakibatkan sumber C pada media menjadi lebih banyak dan diharapkan pertumbuhan bakteri lebih tinggi

1. Total bakteri dan *coliform* selama penyimpanan

Pengujian total bakteri dan *coliform* digunakan untuk menentukan kualitas mikrobiologis tahu. Hasil penelitian terhadap total bakteri tahu selama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1 dan *coliform* tahu pada Gambar 2. Tabel 1 menunjukkan bahwa total bakteri tahu pasteurisasi air (KON) pada hari ke-0 paling tinggi diantara perlakuan yang lain dan terus mengalami peningkatan 1 log cycle selama penyimpanan pada suhu 4°C, selama 7 hari. Tahu yang dipasteurisasi dengan air (KON), total bakterinya cukup tinggi. Terdapat 7 macam bakteri yang diisolasi dari tahu yang sudah busuk dan diidentifikasi terdapat *Bacillus* sp. (S08), *B. megaterium* (S10), *B. cereus* (S17, S27, S28, S32) dan *Enterobacter sakazakii* (S35)⁶. *Bacillus* mempunyai sifat mesofilik/psikotropik, aerobik dan anaerobik. Selama proses pasteurisasi, beberapa sel vegetatif bakteri dalam tahu mengalami kematian, sebagian mengalami *sublethal injury* dan spora bakteri seperti *Bacillus* sp. masih bertahan selama pemanasan. Saat pasteurisasi terjadi aktivasi spora. Setelah aktivasi, spora *Bacillus* dapat mengalami germinasi selama penyimpanan suhu dingin²⁶. Spora yang mengalami germinasi menjadi

Tabel 1. Rata rata total bakteri tahu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Table 1. Average of total bacteria count during storage at 4 °C temperature

Perlakuan/ Treatment	Total bakteri selama penyimpanan / Total bacteria count during storage (CFU/g)		
	0 hari/ 0 day	3 hari/ 3 days	7 hari/ 7 days
KON	5,53 x 10 ⁵	6,01 x 10 ⁶	5,20 x 10 ⁶
PDS	3,75 x 10 ³	4,10 x 10 ³	6,06 x 10 ⁴
RSL	5,17 x 10 ⁵	3,26 x 10 ⁶	4,10 x 10 ⁷
RNL	4,7 x 10 ³	2,75 x 10 ⁵	2,75 x 10 ⁷
RSS	2,4 x 10 ³	4,73 x 10 ³	6,05 x 10 ⁴

Keterangan/ Remarks :

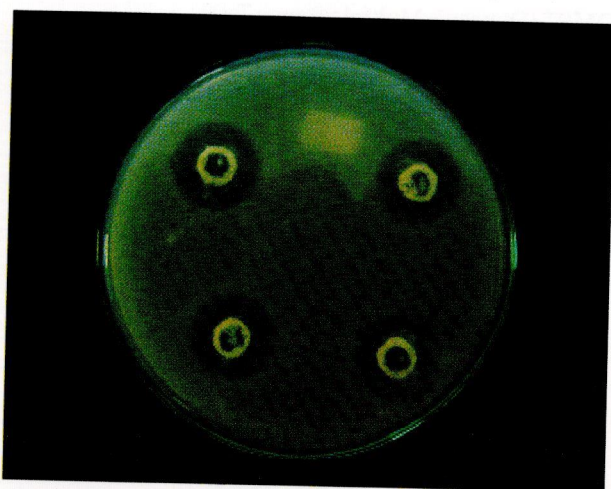
KON = pasteurisasi dengan air pada 95 °C selama 5 menit/ KON/ pasteurization using water at 95°C for 5 min

PDS = pasteurisasi dengan supernatan kultur *Pa*F11 pada suhu 95°C selama 5 menit/ PDS / pasteurization using *Pa*F11 culture supernatant at 95°C for 5 min

RSL = perendaman dengan supernatan kultur *Pa* F11 pada suhu kamar selama 15 menit/ RSL/soaking using *Pa*F11 culture supernatant at room temperature for 15 min

RNL = perendaman dengan Nisaplin[®] (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit/ RNL/soaking using Nisaplin[®] (200 mg/l) at 4°C for 15 min

RSS = perendaman dengan supernatan kultur *Pa*F11 pada suhu 4°C selama semalam/ RSS/soaking using *Pa*F11 culture supernatant at 4°C overnight



Gambar 1. Penghambatan kultur *Pa*F11 yang ditumbuhkan dalam limbah cair tahu 1% sukrosa (37°C, 24 jam) terhadap pertumbuhan *P. acidilactici* LB42

Figure 1. Inhibition of *Pa*F11 culture that was grown in limbah cair with addition of 1% sucrose (37°C, 24 hour) to the growth of *P. acidilactici* LB42

sel vegetatif kemudian berkembang dan menyebabkan kerusakan tahu.

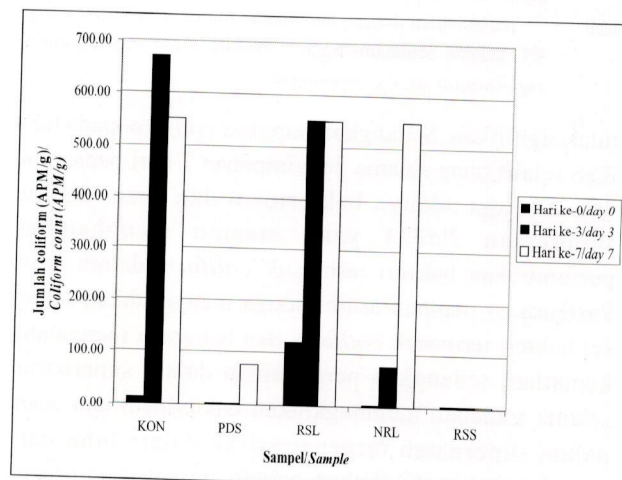
Pada hari ke-0 total bakteri tahu yang direndam *Nisaplin*^R 200mg/L (RNL) dan tahu yang direndam supernatan *PaF11* selama 15 menit (RSL) lebih rendah daripada KON, namun terus mengalami kenaikan selama penyimpanan dan pada hari ke-7 lebih tinggi daripada KON. Pada tahu yang direndam *Nisaplin*^R 200mg/L (RNL), starting point mikrobial awalnya rendah, namun pada hari ke-3 dan ke-7 *Nisaplin*^R tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada tahu. Hal ini disebabkan karena tahu tidak mengalami proses pemanasan sehingga bakteri dalam tahu mengalami *sublethal injury* yang ringan disebabkan oleh suhu rendah dan selama penyimpanan bakteri psikrotropik yang dapat beradaptasi pada suhu rendah berkembang biak sehingga total bakteri tahu mengalami kenaikan selama penyimpanan. Pada hari ke-7 total bakteri dalam tahu mencapai $>10^7$ dan dinyatakan sudah tidak layak konsumsi. *Nisaplin*^R mampu menghambat bakteri bila jumlah bakteri dibawah 10^3 namun bila bakteri sudah melebihi 10^3 tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada tahu yang direndam supernatan *PaF11* selama 15 menit (RSL) starting point mikrobial awalnya tinggi dan selama penyimpanan terus mengalami kenaikan. Hal ini dapat disebabkan karena sel bakteriosin produser (*PaF11*) masih hidup sehingga mempengaruhi total bakteri dalam tahu. Selain itu adanya enzim proteolitik yang masih aktif menyebabkan aktivitas bakteriosin menurun sehingga tidak dapat menekan bakteri dalam tahu dan enzim hasil metabolit dari *PaF11* ini dapat bereaksi dengan komponen dalam tahu sehingga tahu mudah rusak. Selama penyimpanan total bakteri terus mengalami kenaikan dan pada hari ke-3 total bakteri dalam tahu lebih dari 10^6 dan menurut SNI tahu ini sudah dinyatakan tidak layak untuk dikonsumsi.

Selama penyimpanan 7 hari, pada tahu yang dipasteurisasi dengan supernatan *PaF11* selama 5 menit (PDS) dan tahu yang direndam supernatan *PaF11* semalam (RSS) dari hari ke-0 sampai hari ke-7, total bakteri tahu lebih rendah dibanding perlakuan yang lain. Pasteurisasi efektif dalam menurunkan jumlah total bakteri pada tahu dan memperlambat produksi gas yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif¹. Penambahan asam laktat (hingga pH 5,5) dan kultur *Lactobacillus plantarum* (2×10^7 CFU/g) dapat menghentikan produksi gas pada tahu yang terkontaminasi. Tahu yang disterilisasi dengan autoklaf suhu 105 °C selama 20 min, dapat menurunkan total bakteri 3 log cycle¹².

Pada tahu yang dipasteurisasi dengan supernatan *PaF11* selama 5 menit (PDS), setelah spora menjadi sel vegetatif, sel vegetatif *Bacillus* sp. dapat dihambat oleh bakteriosin yang ada dalam supernatan sehingga populasi

bakteri dalam tahu dapat ditekan. Hal ini sejalan dengan beberapa hasil penelitian lain yang menyatakan bahwa Pediocin F mampu menghambat *B. Cereus*^{28,29}. Perendaman tahu dengan supernatan *PaF11* (pH $\pm 4,5$) selama semalam (RSS), menyebabkan senyawa metabolit dalam supernatan terpenetrasi kedalam tahu. pH rendah menunjukkan adanya asam organik di dalam supernatan *PaF11*. Pada pH asam beberapa bakteri dalam tahu mengalami *sublethal injury* dan beberapa mengalami kematian. Bakteri yang telah mengalami *sublethal injury* mudah diserang oleh bakteriosin karena sel menjadi lebih permeabel sehingga bakteriosin dapat masuk melalui dinding sel, kontak dengan membran dan membuat fungsi membran menjadi tidak stabil³⁰.

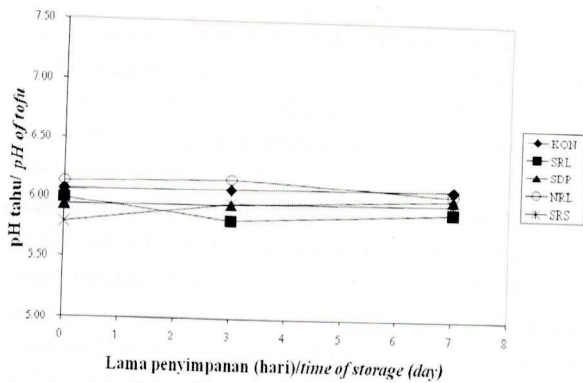
Gambar 2 menunjukkan populasi *coliform* tahu KON cukup rendah pada hari ke-0 namun pada hari ke-3 mengalami peningkatan secara signifikan (paling tinggi diantara perlakuan lain). Begitu juga pada tahu RSL dan RNL *coliform* tahu mengalami peningkatan yang cukup signifikan meskipun pada tahu RNL peningkatan yang signifikan baru terjadi pada hari ke-7. Sedangkan pada tahu PDS pada hari ke-0 dan ke-3 populasi *coliform* rendah dan relatif tetap dan baru meningkat pada hari ke-7 namun



Gambar 2. *Coliform* tahu selama penyimpanan suhu 4°C
Figure 2. *Coliform* count on tofu during storage at 4°C

Keterangan/ Remarks :

- KON = pasteurisasi dengan air pada 95 °C selama 5 menit/ KON= pasteurization using water at 95°C for 5 min
PDS = pasteurisasi dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu 95°C selama 5 menit/ PDS = pasteurization using *PaF11* culture supernatant at 95°C for 5 min
RSL = perendaman dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu kamar selama 15 menit/ RSL= soaking using *PaF11* culture supernatant at room temperature for 15 min
RNL = perendaman dengan *Nisaplin*^R (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit/ RNL = soaking using *Nisaplin*^R (200 mg/l) at 4°C for 15 min
RSS = perendaman dengan supernatan kultur *PaF11* pada suhu 4°C selama semalam/ RSS = soaking using *PaF11* culture supernatant at 4°C overnight



Gambar 3. pH tahu selama penyimpanan dingin
Figure 3. pH of tofu during cold storage

Keterangan/ Remarks :

- KON = pasteurisasi dengan air pada 95 °C selama 5 menit/ KON= pasteurization using water at 95°C for 5 min
PDS = pasteurisasi dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 95°C selama 5 menit/ PDS = pasteurization using PaF11 culture supernatant at 95°C for 5 min
RSL = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu kamar selama 15 menit/ RSL= soaking using PaF11 culture supernatant at room temperature for 15 min
RNL = perendaman dengan Nisaplin[®] (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit/ RNL = soaking using Nisaplin[®] (200 mg/l) at 4°C for 15 min
RSS = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 4°C selama semalam/ RSS = soaking using PaF11 culture supernatant at 4°C overnight

tidak signifikan. Sedangkan populasi *coliform* pada tahu RSS relatif tetap selama penyimpanan 7 hari pada suhu 4°C. Diduga adanya bakteriosin dan asam dalam supernatan PaF11 yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri termasuk *coliform* dalam tahu. Pasteurisasi maupun asam diduga menyebabkan *injury* sel bakteri termasuk *coliform* dan beberapa mengalami kematian, sedangkan perendaman dalam supernatan selama semalam memungkinkan bakteriosin dan asam dalam supernatan terpenetrasi ke dalam tahu dan menghambat pertumbuhan bakteri termasuk *coliform*. Sedangkan, perendaman selama 15 menit menggunakan Nisaplin[®] maupun supernatan PaF11 tidak memungkinkan supernatan dan bakteriosin terpenetrasi ke dalam tahu secara optimal karena hanya mampu menekan total bakteri dan *coliform* pada hari ke-0 dan selama penyimpanan terus meningkat.

Aksi antimikrobia dari asam berhubungan dengan kemampuan molekul asam yang tidak terdisosiasi dan terpenetrasi melalui membran plasma bakteri. Dalam sitoplasma, asam terdisosiasi menjadi proton dan basa konjugasi dengan pH yang lebih tinggi, reaksi ini menyebabkan terganggunya *proton motive force* sehingga bakteri tidak mampu melakukan pembentukan energi dimana proses transportasi tergantung adanya energi dalam sel¹⁷. Sedangkan mekanisme penyerangan

bakteriosin, yaitu bakteriosin teradsorpsi oleh mikrobia yang rentan dan bakteriosin menempel pada reseptor yang bersifat spesifik, selanjutnya terjadi perubahan permeabilitas dan integritas membran yang mengakibatkan sel kehilangan kemampuan untuk membelah diri dan terjadi lisis³¹.

Penggunaan supernatan dengan kombinasi pasteurisasi selama 5 menit mampu menghambat pertumbuhan bakteri termasuk *coliform* dalam tahu. Hal ini terjadi karena saat proses pasteurisasi beberapa bakteri mengalami kematian dan *injury*, dan spora bakteri yang mengalami aktivasi menjadi sel vegetatif selama penyimpanan dapat ditekan. Pediocin F mampu menghambat *Bacillus sp.* dan *E. coli*. Selain itu, asam yang terdapat dalam supernatan menyebabkan bakteri-bakteri dalam tahu mengalami *sublethal injury*, sehingga dengan adanya kombinasi bakteriosin, asam, dan pasteurisasi mampu menekan pertumbuhan bakteri dan *coliform*^{28,29}.

Penggunaan supernatan dengan kombinasi perendaman semalam pada suhu 4°C dapat menekan bakteri dan *coliform*. Karena waktu perendaman cukup lama (selama semalam), menyebabkan asam dan bakteriosin terpenetrasi secara optimal ke dalam tahu sehingga bakteri mengalami *sublethal injury* dan mudah diserang oleh bakteriosin karena sel menjadi lebih permeabel dan membuat fungsi membran menjadi tidak stabil³⁰.

B. pH tahu

Hasil penelitian terhadap pH tahu selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar tersebut menunjukkan bahwa perubahan pH tahu selama penyimpanan dari semua perlakuan relatif tetap (stabil) yaitu berkisar 5,79 – 6,09. Bila dilihat dari total bakteri dan *coliform* pada PDS maupun RSS lebih rendah dibanding perlakuan lain dan pH relatif tetap. Kemungkinan penggunaan supernatan PaF11 mengandung bakteriosin dan asam mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk asam antara lain *coliform* dan bakteri asam laktat seperti *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus lactis*. Sedangkan perlakuan lain seperti KON, NIS, dan RSL memungkinkan bakteri yang mendominasi tahu adalah bakteri berspora seperti *Bacillus sp.* yang merupakan bakteri yang memiliki enzim proteinase dan peptidase yang dapat menghidrolisis protein dan peptida besar dalam makanan menjadi asam amino dan peptide kecil. Tahu mengandung gizi yang tinggi yaitu protein, asam-asam amino esensial dan isoflavon¹. Asam-asam amino ini dapat direduksi oleh mikrobia dengan reaksi *Stickland* dan menghasilkan asam lemak, NH₄, dan CO₂ dan peningkatan senyawa NH₄⁺ yang mencegah penurunan pH makanan²⁷.

Tabel 2. Hasil uji organoleptik terhadap atribut tahu pada hari ke-7

Table 2. Result of organoleptic test to tofu attribute on the seventh day

Sampel/ Sample	Nilai Atribut/ Attribute Score			
	Flavor/ Flavour	Warna/ Colour	Tekstur/ Texture	Kenampakan/ Appearance
KON	5,56 ^a	4,76 ^{ab}	6,12 ^{ab}	7,96 ^{ab}
PDS	7,52 ^b	6,16 ^b	7,04 ^{bc}	7,84 ^{ab}
RSL	6,56 ^{ab}	4,16 ^a	4,92 ^a	8,24 ^b
RNL	7,48 ^b	6 ^b	7,68 ^c	7 ^a
RSS	6,4 ^{ab}	5,64 ^b	6,88 ^{bc}	8 ^{ab}

Keterangan/Remarks : Notasi berbeda dalam satu kolom menunjukkan beda nyata atribut tahu (α 0,05) menurut uji Duncan. Nilai Atribut (1 = jelek; 10 = baik)/ Different notation in one coloumn showed significantly different on tofu attribute (α 0,05) by Duncan test. Attribute score (1=bad; 10=fine),

KON = pasteurisasi dengan air pada 95 °C selama 5 menit/ KON/ pasteurization using water at 95°C for 5 min

PDS = pasteurisasi dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 95°C selama 5 menit/ PDS/ pasteurization using PaF11 culture supernatant at 95°C for 5 min

RSL = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu kamar selama 15 menit/ RSL/ soaking using PaF11 culture supernatant at room temperature for 15 min

RNL = perendaman dengan Nisaplin^R (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit/ RNL / soaking using Nisaplin^R (200 mg/l) at 4°C for 15 min

RSS = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 4°C selama semalam/ RSS / soaking using PaF11 culture supernatant at 4°C overnight

C. Organoleptik tahu

Secara organoleptik, tahu yang masih baik adalah tahu dengan intensitas bau asam atau kecut rendah, intensitas

warna putih tinggi, tekstur kompak dan kenyal dan kenampakan tidak berlendir. Hasil uji organoleptik terhadap atribut tahu dapat dilihat pada Tabel 2.

Secara umum warna, flavor dan kenampakan tahu dari semua perlakuan tidak berbeda nyata. Bau tahu PDS dan RNL lebih baik dari KON. Warna tahu PDS, RNL dan RSS lebih baik dibanding KON dan RSS. Tekstur RNL lebih baik dari KON dan tidak berbeda nyata dengan PDS dan RSS. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan supernatan PaF11 dengan pasteurisasi 5 menit atau perendaman semalam mampu memperbaiki bau, warna dan tekstur tahu, dan lebih baik dibanding kontrol (KON). Kemungkinan rendahnya jumlah bakteri dan *coliform* pada tahu PDS dan RSS dibanding perlakuan lain menyebabkan perombakan nutrisi dalam tahu lebih lambat sehingga flavor tahu tidak terasa asam, warna tahu lebih putih, dan tekstur tahu masih kompak setelah penyimpanan 7 hari.

Selain pengujian atribut tahu, pengujian sensoris juga digunakan untuk mengetahui penerimaan tahu setelah penyimpanan 7 hari. Tahu yang masih baik yaitu bila penerimaan panelis lebih dari 75 %. Hasil uji penerimaan panelis pada tahu hari ke-7 dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan PDS mempunyai tingkat penerimaan yang tertinggi dan paling disukai. Penggunaan Nisaplin^R untuk perendaman selama 5 menit (RNL) atau penggunaan supernatan PaF11 untuk perendaman selama semalam (RSS) juga meningkatkan penerimaan panelis dibanding kontrol (KON). Sedangkan KON dan RSL tingkat penerimaan panelis dibawah 75% dan kurang disukai. RNL disukai karena menurut panelis, RNL memiliki atribut tahu warnanya cukup putih, teksturnya lembut dan flavor tidak asam. Sedangkan pada tahu PDS dan RSS, tingkat penerimaannya tinggi (>75%) karena warnanya putih, bau tidak asam dan teksturnya kompak.

Tabel 3. Hasil penerimaan panelis pada Tahu Hari ke-7

Table 3. Result of consumer acceptance tofu on seventh day

Sampel/ Sample	Menerima/ Accepted	Menolak/ Refused	Paling disukai/ Very like	Paling tidak disukai/ Very dislike
KON	72%	28%	8%	32%
PDS	100%	0%	48%	0%
RSL	64%	36%	8%	44%
RNL	92%	8%	20%	12%
RSS	92%	8%	8%	4%
Tidak Menjawab/ Not Answered			8%	4%

Keterangan/ Remarks :

KON = pasteurisasi dengan air pada 95 °C selama 5 menit/ KON= pasteurization using water at 95°C for 5 min

PDS = pasteurisasi dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 95°C selama 5 menit/ PDS = pasteurization using PaF11 culture supernatant at 95°C for 5 min

RSL = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu kamar selama 15 menit/ RSL= soaking using PaF11 culture supernatant at room temperature for 15 min

RNL = perendaman dengan Nisaplin^R (200 mg/l) pada suhu kamar selama 15 menit/ RNL = soaking using Nisaplin^R (200 mg/l) at 4°C for 15 min

RSS = perendaman dengan supernatan kultur PaF11 pada suhu 4°C selama semalam/ RSS =soaking using PaF11 culture supernatant at 4 °C overnight

Hal ini membuktikan bahwa tahu pada hari ke 7 dengan penambahan supernatan kultur *PaF11* baik dengan kombinasi pasteurisasi 5 menit atau perendaman semalam masih diterima dan disukai panelis.

Namun penggunaan supernatan kultur *PaF11* tanpa pemanasan terlebih dahulu (RSL) mendapat penolakan panelis yang paling besar yaitu 36%. Hal ini disebabkan karena menurut panelis flavor tahu asam dan warna kekuningan. Flavor asam ini dimungkinkan karena adanya *Streptococcus lactis* dan bakteri *coliform* selama penyimpanan suhu dingin. *S. lactis* yang tahan pemanasan dapat menyebabkan pengasaman tahu³². Bakteri ini bersifat mesofilik²⁷. Sedangkan tahu KON kurang disukai karena warna kekuningan, berlendir dan berair. Lendir dan kenampakan berair kemungkinan disebabkan oleh bakteri *coliform*, *B. subtilis* dan *B. Mesentericus*, dan *L. mesenteroides* dan warna kekuningan dapat disebabkan oleh *B. cereus* karena bakteri ini tahan terhadap pemanasan dan berkembang selama penyimpanan suhu dingin.

KESIMPULAN

1. Penggunaan supernatan *P. acidilactici* F11 untuk penyimpanan tahu pada suhu dingin dengan kombinasi pasteurisasi 5 menit pada suhu 95°C dapat menekan bakteri tahu sebesar 2 log cycle dan *coliform* 475 APM/g, sedangkan penggunaan kombinasinya dengan perendaman semalam pada suhu 4°C dapat menekan bakteri sekitar 2 log cycle dan *coliform* sebesar 550 APM/g.
2. Penggunaan supernatan *P. acidilactici* F11 dengan kedua cara di atas dapat memperpanjang masa simpan tahu sampai 7 hari.
3. Penggunaan supernatan dengan kedua cara di atas, memberikan tingkat penerimaan panelis lebih tinggi dibanding tahu pasteurisasi air

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhao Z, Saito M, Yoshihashi T, Nakahara K, Tatsumi E. Microorganism control in packed tofu manufacture with electrolyzed water. JIRCAS Journal. 2002; 10:13-20.
2. Standar Nasional Indonesia (Tahu). Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional; 1992.
3. Van-Kooij JA, Boer E. A survey of the microbiological quality of commercial tofu in the Netherlands. International Journal of Food Microbiology. 1985; 2(6):349-354.
4. Champagne CP, Aurouze B, Goulet G. Inhibition of undesirable gas production in tofu (abstract). J. Food Science. 1991; 56(6):1600-1603.
5. Matsuzawa K, Yamanaka S, Yamashita H, Yamaguchi T, Ueda O, Terashita T. Isolation and identification of a microorganism from juten-tofu with yellow spots (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*). Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 1998; 45(1):66-68.
6. No HK, Park NY, Lee SH, Hwang HJ, Meyers SP. Antibacterial activities of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weight on spoilage bacteria isolated from tofu (Abstract). J. Food Science. 2002; 67(4):1511-1514.
7. Ashenafi M. Microbiological evaluation of tofu and tempeh during processing and storage. J. Plants Foods for Human Nutrition. 1994; 45(2):183-189.
8. Pontecorvo AJ, Bourne MC. Simple methods for extending the shelf life of soy curd (Tofu) in Tropical areas. J. Food Science. 1977; 43(3):969-972.
9. No HK, Meyer SP. Preparation of tofu using chitosan as a coagulant for improved shelf-life. J. Food Science. 2003; 39(2):133-141.
10. Kim YS, Choi YM, Noh DO, Suh HJ. The Effect of oyster shell powder on the extension of the shelf life of tofu. J. Food Chemistry. 2007; 103(1):155-160.
11. Anbarasu, Vijayalakshmi. Improved shelf life of protein-rich tofu using *Ocimum sanctum* (tulsi) extracts to benefit indian rural population. J. Food Science 2007; 72(8):300-305.
12. Huang TC, Fu HY, Ho CT. Comparative studies on some quality attributes of firm tofu sterilized with traditional and autoclaving methods. J. Agric. Food Chem. 2003; 51(1):254-259.
13. Sarastuti. Pengaruh lama waktu pasteurisasi terhadap masa simpan tahu. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada; 2008.
14. Fibri DLN. Aplikasi nisin untuk memperpanjang masa kadaluwarsa tahu simpan dingin. Skripsi Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada; 2008.
15. Ray B, Daesche M. Food biopreservation of microboal origin. Florida: CRC Press Inc; 1992.
16. Holzapfel WH, Geisen R, Schilinger U. Biological preservation of foods with reference to protective culture, bacteriocins and food grade enzymes. Int. Journal of Food Microbiol. 1995; 24:343-362.
17. Karovičová J, Kohajdová Z. Lactic acid fermented vegetable juices. Horticultural Science (Prague). 2003; 30(4):152-158.
18. Adams MR, Nicolaides L. Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. Food Control. 1997; 8:227-239.
19. Deegan LH, Cotter PD, Hill C, Ross P. Bacteriocins : Biological tool for bio-preservation and shelf-life extension [review]. International Dairy Journal. 2006; 16:1058-1071.
20. Leroy F, Winter TD, Adriany T, Neysens P, Vuyst LD. Sugar relevant for sourdough fermentation stimulate growth of and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471. Int. Journal of Food Microbiol. 2006; 112:102-111.
21. Nendissa JS. Pemanfaatan kultur *Pediococcus acidilactici* F-11 penghasil bakteriosin untuk memperbaiki kualitas "ina sua" (ikan asin) gurame (*Osphoreus gourame lacepede*) [tesis]. Yogyakarta: Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Gajah Mada; 2001.
22. Rahayu ES, Harmayani E, Utami T, Handarini K. *Pediococcus acidilactici* F 11. penghasil bakteriosin sebagai agensia biokontrol *E. Colli* dan *Staphilococcus aureus* pada sayuran segar simpan dingin. Jurn. Agritech. 2004; 24(3):113-124.
23. Cleveland J, Montville JT, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocin : Safe, natural antimicrobils for food preservation. International Journal of Food Microbiology. 2001; 71:1-20.
24. FDA Bacteriology Analytical Manual, 8th edition. Gaithersburg: AOAC International; 1995.
25. Watts BM, Ylimaki GL, Jeffrey LE, Elias LG. Basic sensory methods for food evaluation. Canada: International Development Research Center; 1989.

26. Bernal VM, Smadja CH, Smith JL, Stanley DW. Interactions in protein polysaccharide and calcium gels. *J. Food Science*. 1987; 52:1121-1136.
27. Ray B. *Fundamental food microbiology*. Florida: CRC Press, Inc; 1996.
28. Bhunia AK, Johnson MC, Ray B. Direct detection of an antimicrobial peptide of *P. acidilactici* in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis *Journal of Industrial Microbiology*. 1987; 2:319-322.
29. Osmanagaoglu O, Gunduz U, Beyalti Y, Cokmus C. Purification and characterization of pediocin f, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* F; *Tr. J.of Biology*. 1998; 22: 217-228
30. Hoover DG, Steenson LR. *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. San Diego: Academic Press, Inc; 1993
31. Bhunia AK, Johnson MC, Ray B, Kalchayanand N. Mode of action of pediocin AcH from *P. acidilactici* H on sensitive bacteria strain. *Journal Applied Bacteriology*. 1991; 70:25-33
32. Rahayu ES. *Karakterisasi kerusakan tahu*. Laporan penelitian. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada; 1992